

Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Beeinflussung
der hyaluronidasespreadinghemmenden
Wirkung verschiedener Substanzen
durch Reserpin

von

ELSBETH MECKEL

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung der
hyaluronidasespreadinghemmenden Wirkung
verschiedener Substanzen durch Reserpin



Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elsbeth Meckel

aus
Überherrn-Saar

1961



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. W. Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 7. November 1961

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	7
Methodik	7
Versuchsreihen	7
Berechnung der prozentualen Hemmung	8
Statistische Auswertung	9
Diskussion	23
Zusammenfassung	25
Literaturverzeichnis	26



Problematik

In früheren Arbeiten haben M a t h i e s und Mitarbeiter ¹⁻¹² festgestellt, daß die Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen (Salicylate, Pyrazolone, Glucocorticoide, Moorbäder u.a.), an eine Nebennierenmarkfunktion mit Ausschüttung von Katecholaminen gebunden ist. Dabei tritt die Hyaluronidasehemmung erst nach Absinken des durch die Katecholaminausschüttung vorübergehend erhöhten Katecholaminblutspiegels auf. Im Anschluß an diese Feststellung wurde die Bedeutung des Adrenalins bezüglich seines hyaluronidasehemmenden Effektes von M a t h i e s und S c h l i e r f ^{13,14} näher untersucht. Die Ergebnisse dieser an adrenaletomierten Ratten vorgenommenen Untersuchungen besagen, daß die Hyaluronidasehemmung immer dann auftritt, wenn der Adrenalinblutspiegel von einem höheren auf ein niedrigeres Niveau absinkt. Nach Untersuchungen von M a t h i e s und S c h e u f e l e ¹⁶ scheint hier eine Niveaudifferenz von $1\gamma/100\text{ g}$ Ratte das Minimum darzustellen, unter dem eine Hyaluronidasehemmung nicht mehr mit Sicherheit erzielbar ist. Erwähnenswert ist ferner die Tatsache, daß die Hyaluronidasehemmung der geprüften Substanz und des Adrenalins durch Adrenolytika aufgehoben wird ¹⁷. Ebenso kommt eine Hyaluronidasehemmung z.B. durch Salicylate nicht zustande, wenn vorher Ganglienblocker verabfolgt werden ¹⁸.

Mit dieser Versuchsanordnung schien die Möglichkeit gegeben, durch Bestimmungen der Hyaluronidaseaktivität den Einfluß des Reserpins auf das Adrenalin näher zu untersuchen. Aus der Literatur (K r o n e b e r g u. S c h ü m a n n ¹⁹, Z b e n d e r u. S t u d e r ²⁰, S c h m i d t ²¹, H o l t z ²², C a l l i n g h a m u. M a n n ²³, M a x w e l l, P l u m m e r, O s b o r n u. R o s e ²⁴ sowie K r o n e b e r g ²⁵) ist bekannt, daß Reserpin zu einer Verarmung des Nebennierenmarkes an Katecholaminen und damit auch an Adrenalin führt. Teilweise ist dieses Verhalten als Adrenalin- und Noradrenalin-ausschüttung gedeutet worden. Andererseits ist der blutdrucksenkende Effekt des Reserpins bekannt, der verschiedentlich als Adrenalin-

blockade angesehen wird. Bei n und Mitarbeiter ²⁶ reden von einer zentralbedingten, blutdrucksenkenden Wirkung. Auf jeden Fall ist eine Blutdrucksteigerung durch Reserpin, wie sie bei dieser Ausschüttung aus dem Nebennierenmark zu erwarten ist, nicht bekannt. M u s c h o l l u. V o g t ²⁷ beschreiben einen Anstieg des Blutadrenalingehaltes in den ersten 100 Minuten nach Reserpin-Applikation. K r o n e b e r g u. S c h ü m a n n ¹⁹ wiesen auf einen Anstieg des Adrenalins in der Nebennierenvene hin. E v e r e t t , T o m a n u. S m i t h ²⁸, D e J o n g h u. P r o o s d i j - H a r t z e m a ²⁹ nehmen wegen einer Piloerreaktion bzw. eines vorübergehenden Blutdruckanstieges beim Spinalhund eine Adrenalin-ausschüttung an. M a x w e l l , R o s e , P l u m m e r u. S i g g ³⁰ stellten fest, daß die denervierte und auf zirkulierenden Adrenalin besonders empfindliche Nickhaut von Hunden oder Katzen sich innerhalb von 20 - 50 Minuten nach Reserpin kontrahierte. Die Kontraktion konnte durch das Sympathicolyticum Phentolamin (Regitin) rückgängig gemacht werden. Dagegen beschreibt B u r g e r ³¹ ein Absinken des Katecholamingehaltes des Blutplasmas.

E c k e l m a n n ³² hat sich zur Aufgabe gemacht, mit den oben genannten Bestimmungsmethoden der Hyaluronidasehemmung einen weiteren Einblick in den Einfluß des Reserpins auf die Nebennierenmark-Katecholamine zu gewinnen. Sie konnte feststellen, daß Reserpin eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zur Folge hat, die nach den Arbeiten von M a t h i e s u. Mitarb. ¹⁻¹⁶ durch ein Absinken des Adrenalinblutspiegels zustande gekommen sein dürfte. Durch diese Ergebnisse wird zunächst nichts darüber ausgesagt, ob dieses Absinken unter das Normalniveau erfolgt oder ob es sich um ein Absinken auf das Normalniveau nach vorheriger Katecholaminfreisetzung handelt. Weitere Versuche von E c k e l m a n n ³² zeigten jedoch, daß die Hyaluronidasehemmung des Reserpins nicht durch das Adrenolyticum Ergotamin zentral blockiert werden kann, wie dieses bei den übrigen hyaluronidasehemmend wirksamen Substanzen (Salicylate, Phenylbutazon, Glucocorticoide, Oestransulfat und Moorbäder), die eine Katecholamin-ausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirken, der Fall ist. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß das Absinken des Blutkatecholaminspiegels nach Gabe von Reserpin nicht im Anschluß an eine vorherige Katecholaminfreisetzung erfolgt. Ferner spricht auch das von E c k e l m a n n ³² gefundene Verhalten der Hyaluronidasehemmung des

Reserpins nach vorheriger Applikation eines Ganglienblockers für diese Vermutung, während nach Untersuchungen von S c h w a l b a c h¹⁸ nach vorheriger Pendiomid-Gabe die Hyaluronidasehemmung des Natrium-Salicylates ausbleibt, ist diese bei Reserpin in voller Höhe vorhanden, wenn vorher Pendiomid injiziert wird. Diese Untersuchungen sprechen also dafür, daß Reserpin durch seinen, hier nicht näher zu erörternden Wirkungsmechanismus zu einem Abfall des Blutadrenalinpiegels unter das Normalniveau führt, und daß die in der Literatur angegebenen und oben bereits erwähnten Befunde einer Abnahme des Katecholamingehaltes des Nebennierenmarkes an Reserpin nicht im Sinne einer Ausschüttung in die Blutbahn mit daraus resultierender Erhöhung des Blutkatecholaminspiegels zu deuten ist.

Nach diesen bisherigen Untersuchungsergebnissen war es interessant, in der vorgelegten Arbeit zu klären, inwieweit durch Reserpin auch die Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark mit Erhöhung des Blutkatecholaminspiegels nach Natrium-Salicylat und Phenylbutazon unmöglich bzw. unwirksam wird. Und ferner sollte untersucht werden, ob auch die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin, die im Anschluß an die durch die Injektion vorübergehend erfolgte Erhöhung des Blutkatecholaminspiegels auftritt, durch Reserpin blockiert wird. Schließlich wurde untersucht, ob die Hyaluronidasehemmung des Reserpins selbst ausbleibt, wenn durch vorherige Reserpingabe der Blutkatecholaminspiegel bereits weitgehend gesenkt wurde.

Eigene Versuche

Methodik

Für die Versuche wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 110 bis 200 g verwendet. Bei den Versuchsreihen wurden die Tiere zunächst mit Äther dann mit Evipan (30 - 60 mg/100 g Tiergewicht) subcutan narkotisiert. Die Hyaluronidaseaktivität wurde an der Ausbreitung einer Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor und zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion der zu prüfenden Substanzen ermittelt. Die Quaddeln wurden streng intracutan mit einer feinen Kanüle in die mit Pilca schonend enthaarte Bauchhaut gesetzt. Die reine Farbstoffquaddel wurde mit 0,1 ccm einer 0,6%igen Evansblau-Lösung gesetzt; zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung wurden in 2 ccm der genannten Farbstofflösung 150 I.E. Hyaluronidase (Kinetin) gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm 7,5 I.E. Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes wurde 10 Minuten nach der Quaddel-Injektion an der erreichten Ausbreitung gemessen. Die Konturen wurden auf durchsichtige Zelluloidstreifen übertragen und anschließend planimetrisch ausgemessen. Die Ausbreitung geht nach *M a d i n a v e i t i a*³³ in zwei Phasen vor sich, bei welchen nur die erste, innerhalb 10 Minuten ablaufende Reaktion, sicher ein Effekt der Hyaluronidase ist.

Die Adrenalektomie wurde 48 Stunden vor dem Versuch in Äthernarkose durchgeführt. Die adrenalektomierten Tiere erhielten zur Aufrechterhaltung des Ionenhaushaltes physiologische NaCl-Lösung und wurden mit Hafermark und Zucker ernährt. 48 Stunden nach der Adrenalektomie ist nach *K a r g*³⁴, *B a c h m a n n*³⁵ und *C a n a l i s*³⁶ kaum eine Regeneration funktionstüchtigen akzessorischen Nebennierengewebes mehr anzunehmen.

1. Versuchsreihe

Bei Normaltieren wurde vor dem Versuch die reine Farbstoff- und die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und deren Ausbreitung nach 10 Minuten bestimmt. Anschließend wurde Reserpin (Serpasil) in einer Dosis von 0,05 mg/100 g Tiergewicht subcutan injiziert. Den niedrigen Tiergewichten entsprechend war eine Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung notwendig. 10, 60 und 150 Minuten (Versuchsreihe 1a,

Versuchsreihe 1b, Versuchsreihe 1c) nach Reserpin-Applikation, nach E c k e l m a n n ³² sind es Hyaluronidaseanstieg, -maximum und -minimum, wurde Natrium-Salicylat in einer Konzentration von 50 mg /100 g Tiergewicht subcutan injiziert. Die Hyaluronidasehemmung ist 50 Minuten nach Natrium-Salicylat-Applikation in oben angegebener Methode bestimmt worden. Die Ergebnisse finden sich in Tab. 1 bis 3.

2. Versuchsreihe

Bei sonst gleichen Reserpin-Applikationszeiten wurde dieses Mal Phenylbutazon (Butazolidin) gegeben. Die Konzentration von Phenylbutazon beträgt 20 mg/100 g Tiergewicht subcutan injiziert. Das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung 10 Minuten (Versuchsreihe 2a), 60 Minuten (Versuchsreihe 2b) und 150 Minuten (Versuchsreihe 2c) ist in den Tabellen 4 bis 6 ersichtlich.

3. Versuchsreihe

Nach E c k e l m a n n ³² konnte bei 150 Minuten nach Reserpingabe die geringste Hyaluronidasehemmung angegeben werden. In dieser Versuchsreihe wurde nun geprüft, inwieweit Adrenalin in einer Dosis von 1 γ /100 g Tiergewicht i.v. noch zur Wirkung kommt. Die Ergebnisse 15 Minuten nach der Injektion siehe Tabelle 7.

4. Versuchsreihe

Es wurde in der gleichen Weise vorgegangen wie in der 3. Versuchsreihe, jedoch sind für diese Versuche adrenaletomierte Tiere verwendet worden. Ergebnisse siehe Tabelle 8.

5. Versuchsreihe

Ob eine zweite Reserpininjektion 150 Minuten nach der ersten eine erneute Katecholaminausschüttung und damit eine Hyaluronidasehemmung zur Folge hat, wurde in dieser Reihe untersucht. Das Resultat 60 Minuten nach der zweiten Applikation ist in der Tabelle 9 zu ersehen.

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hemmung wurde die Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor Gabe der zu prüfenden Substanzen einer 0%igen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität gleichgesetzt. Die Farbstoffquaddel vor Injektion der betreffenden Stoffe entspricht einer 100%igen Hyaluronidasehemmung, da eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidasewirkung die gleiche

Ausbreitung des Farbstoff-Fleckes aufweisen würde. Unter Zugrundelegung dieser beiden Festpunkte wurde das Ausmaß der hyaluronidasehemmenden Wirkung der geprüften Substanzen aus der Flächenausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Applikation der betreffenden Substanzen prozentual berechnet. Die Farbstoff-Quaddel nach Injektion der untersuchten Stoffe wird in dieser Berechnung nicht berücksichtigt, sie dient jedoch in der statistischen Auswertung der Feststellung, ob die untersuchten Stoffe auch auf die reine Farbstoff-Quaddel einen hyaluronidase-unspezifischen hemmenden Effekt ausüben. Die Ergebnisse der prozentualen Berechnung finden sich in Tabelle 19- 27.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

I. Schätzung des Versuchsfehlers

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse war sowohl für die reine Farbstoff-Quaddel als auch für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu prüfen, ob durch die jeweilige medikamentöse Belastung eine Änderung in der Ausbreitung dieser Quaddeln bewirkt wird. Grundsätzlich hätte diese Prüfung für jeden der beiden Quaddel-Typen einzeln mittels des Student-Testes durchgeführt werden können. Bei insgesamt 5 Versuchstieren je Versuchsreihe hätten bei dieser Prüfung 8 Freiheitsgrade für die t-Verteilung zur Verfügung gestanden. Zur Erhöhung der Präzision der statistischen Aussage zogen wir es jedoch vor, für die insgesamt 4 Messreihen je Versuchsreihe (je 2 Messreihen für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) eine zweifache Varianz-Analyse durchzuführen, deren Rest-Varianz wir als eine Schätzung des Versuchsfehlers auffaßten. Dieser Rest-Varianz kommen dann 12 Freiheitsgrade zu, wodurch die gewünschte Erhöhung der Präzision der statistischen Aussage erreicht wird, außerdem war zu erwarten, daß die Rest-Varianz etwas kleiner ist als die Varianz innerhalb der einzelnen Meßreihen.

Die Durchführung der Varianz-Analysen ist allerdings nur dann sinnvoll, wenn die Varianzen innerhalb der einzelnen Meßreihen untereinander homogen sind. Ob dieses zutrifft, prüften wir mittels des Bartlett-Testes. Die Ergebnisse dieses Testes finden sich in den Tabellen 10-18 im Anschluß an die jeweils zugehörige Varianz-Analyse. n bedeutet hierin die Zahl der Freiheitsgrade der Chi-Quadrat-Verteilung, die als Prüf-Verteilung in den Bartlett-Test eingeht.

$\chi^2_{\text{emp.}}$ ist die errechnete Prüf-Größe, p die Überschreitungswahrscheinlichkeit von $\chi^2_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen Prüf-Verteilung. In keinem

Falle ist diese Überschreitungswahrscheinlichkeit kleiner als 5%; es darf also angenommen werden, daß bei allen Versuchsreihen die Varianzen innerhalb der Meßreihen untereinander homogen sind. Die Anwendung der Varianz-Analysen zur Schätzung des Versuchsfehlers ist somit gerechtfertigt.

Das Ergebnis der Varianz-Analysen findet sich in den Tabellen 10 bis 18. Hier interessiert lediglich die Größe der Rest-Varianz, die wir der Prüfung der Mittelwertdifferenzen zwischen den Quaddel-Größen vor und nach Belastung zugrundelegten. In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet SAQ das Summen-Abstands-Quadrat, MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat und n die Zahl der Freiheitsgrade für die jeweilige Varianz-Komponente. Da bei der vorliegenden Form der Versuchsanordnung (nur je 2 Meßreihen für die Farbstoff- bzw. die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) den Varianz-Quotienten zwischen den einzelnen Varianz-Komponenten keine Bedeutung zukommt, wurden diese in den Schemata der Varianz-Analysen nicht angegeben.

II. Prüfung der Mittelwertdifferenzen

Unter Verwendung des in den Varianz-Analysen ermittelten Versuchsfehlers (Rest-Varianz) wurde die Differenz zwischen den Mittelwerten der reinen Farbstoff- bzw. der reinen Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor und nach Belastung mittels des von Duncan entwickelten Testes zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertdifferenzen vorgenommen. Das Ergebnis dieses Testes findet sich in den Tabellen 19-26.

Die Tabellen 19-26 enthalten zunächst in der mit $\bar{x}$ angegebenen Spalte den jeweiligen Mittelwert eines Quaddel-Typus vor und nach Belastung (E: reine Farbstoff-Quaddel; H: Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel). In der mit s^2 überschriebenen Spalte ist die Varianz der Meßwerte innerhalb der betreffenden Testreihe angegeben. Die Differenz zwischen den Mittelwerten vor und nach Belastung findet sich in der Spalte $\bar{x}_t - \bar{x}_0$. Für diese Differenzen wurde mittels des Duncan-Testes geprüft, ob sie statistisch wesentlich von 0 verschieden sind. Kann dieses mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden, die nicht größer als 5% ist, so wurde diese Irrtumswahrscheinlichkeit in der Spalte Sicherung angegeben. Nur in diesen Fällen kann als statistische schwach bzw. ausreichend gesichert gelten, daß zwischen den Mittelwerten vor und nach Belastung ein gesicherter Unterschied besteht.

Die in der üblichen Weise berechnete prozentuale Hyaluronidase-Hemmung findet sich schließlich in der Spalte Hemmung der Tabellen 19-26. Zur Vermeidung von Abrundungsfehlern wurden bei ihrer Berechnung nicht die Mittelwerte, sondern die Gesamtsumme der gemessenen Werte zugrundegelegt.

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
1	175	124	120	224	176
2	155	124	120	228	176
3	175	132	116	216	168
4	185	124	120	216	164
5	185	112	108	200	148

T a b e l l e 1

(Versuchsreihe 1a; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach 10 Min.
Natriumsalicylat 50 Min. 50 mg/100 g)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
6	190	124	112	212	164
7	200	132	116	216	164
8	150	120	112	216	164
9	160	124	120	208	160
10	180	116	116	212	160

T a b e l l e 2

(Versuchsreihe 1b; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach 60 Min.
Natriumsalicylat 50 Min.)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
11	150	116	116	228	216
12	200	120	116	240	236
13	150	116	108	224	220
14	140	116	116	216	208
15	160	132	120	216	204

T a b e l l e 3

(Versuchsreihe 1c; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach
150 Min. Natriumsalicylat 50 Min.)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
16	200	124	112	220	188
17	150	132	120	220	184
18	165	128	112	216	188
19	150	124	116	216	184
20	135	120	116	212	176

T a b e l l e 4

(Versuchsreihe 2a; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach
10 Min. Butazolidin 60 Min. 20 mg/100 g)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
21	135	120	116	224	192
22	160	116	112	220	196
23	135	116	116	212	188
24	160	116	124	220	186
25	135	120	116	220	192
26	135	120	120	232	200

T a b e l l e 5

(Versuchsreihe 2b; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach
60 Min. Butazolidin 60 Min.)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
27	110	128	116	224	208
28	150	128	120	216	216
29	120	128	100	228	224
30	130	116	112	216	212
31	140	120	108	228	224

T a b e l l e 6

(Versuchsreihe 2c; Reserpin 0,05 mg/100 g;
nach 150 Min. Butazolidin 50 Min)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
32	160	128	120	200	196
33	135	124	116	212	196
34	150	128	116	200	196
35	150	124	120	200	200
36	150	124	124	200	196
37	150	124	120	212	204

T a b e l l e 7

(Versuchsreihe 3; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach
150 Min. Adrenalin 15 Min. 1γ/100g)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
38	135	124	116	180	172
39	145	140	124	204	188
40	125	124	120	216	212
41	145	128	120	216	200
42	150	160	120	228	228

T a b e l l e 8

(Versuchsreihe 4; adrenaletomierte Tiere;
Reserpin 0,05 mg/100g; nach 150 Min. Adrenalin
15 Min.)

Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	nach mm ²	vor mm ²	nach mm ²
43	195	124	120	216	192
44	170	120	116	212	188
45	180	124	116	216	196
46	150	124	120	216	196
47	180	124	120	220	192

T a b e l l e 9

(Versuchsreihe 5; Reserpin 0,05 mg/100 g; nach
150 Min. Reserpin 0,05 mg/100 g 60 Min.)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.043	261	11,86	0,1%
Zwischen Stufen	3	32.086	10.695	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	262	22		
Gesamt-Varianz	19	33.391	1.757		

n = 3; $\chi^2_{\text{emp.}} = 3,055$; p = 30%

T a b e l l e 10

(Versuchsreihe 1a)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	258	52	4,00	5,0%
Zwischen Stufen	3	50,228	16,743	100,00	0,1%
Rest-Varianz	15	196	13		
Gesamt-Varianz	23	50,682	2,204		

$n = 3$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 5,400$; $p = 10\%$

T a b e l l e 14
(Versuchsreihe 2b)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	109	27	-	
Zwischen Stufen	3	52,508	17,503	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	608	51		
Gesamt-Varianz	19	53,225	2,801		

$n = 3$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,562$; $p = 90\%$

T a b e l l e 15
(Versuchsreihe 2c)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	61	12	-	
Zwischen Stufen	3	37,347	12,449	100,00	0,1%
Rest-Varianz	15	253	17		
Gesamt-Varianz	23	37,661	1,637		

$n = 3$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 7,357$; $p = 5\%$

T a b e l l e 16
(Versuchsreihe 3)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2.624	656	5,16	5,0%
Zwischen Stufen	3	30.262	10,087	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	1.530	127		
Gesamt-Varianz	19	34.416	1.811		

$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 11,047; p = 1\%$

T a b e l l e 17
(Versuchsreihe 4)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	69	17	5,67	1,0%
Zwischen Stufen	3	36.348	12.116	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	40	3		
Gesamt-Varianz	19	36.457	1.919		

$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,393; p = 30\%$

T a b e l l e 18
(Versuchsreihe 5)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	123	51			
H ₀	5	217	115			
E _{10'}	5	117	27	- 6		-
H _{10'}	5	166	133	- 51	52,1%	1%

T a b e l l e 19
(Versuchsreihe 1a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	123	35			
H ₀	5	213	11			
E _{60'}	5	115	11	- 8		1%
H _{60'}	5	162	5	- 5	53,8%	1%

T a b e l l e 20
(Versuchsreihe 1b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	120	48			
H ₀	5	225	99			
E _{150'}	5	115	19	- 5		-
H _{150'}	5	217	155	- 8	7,5%	-

T a b e l l e 21
(Versuchsreihe 1c)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
E ₀	6	125	4			
H ₀	6	204	38			
E _{150'}	6	119	9	- 6		1%
H _{150'}	6	198	11	- 6	7,3%	1%

T a b e l l e 25
(Versuchsreihe 3)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
E ₀	5	135	235			
H ₀	5	209	331			
E _{150'}	5	120	8	- 15		-
H _{150'}	5	200	464	- 9	10,8%	-

T a b e l l e 26
(Versuchsreihe 4)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
E ₀	5	123	3			
H ₀	5	216	8			
E _{60'}	5	118	5	- 5		1%
H _{60'}	5	193	11	- 23	24,4%	1%

T a b e l l e 27
(Versuchsreihe 5)

Diskussion

Die Versuchsergebnisse haben gezeigt, daß eine 150 Minuten nach Reserpin erfolgte subcutane Applikation von Natrium-Salicylat und von Phenylbutazon keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität mehr erzielen läßt. Dabei wurde als Zeitpunkt der Bestimmung nach Natrium-Salicylat- bzw. Phenylbutazon-Applikation das Intervall zugrundegelegt, das nach den Untersuchungen von Schmidt³⁷ bzw. Hartmann³⁸ mit gleicher Methodik die stärkste Hyaluronidasehemmung ergab. Weiter ließen die Versuche erkennen, daß zu einem früheren Zeitpunkt nach Reserpin-Injektion (z.B. 10 bzw. 60 Minuten) die Blockierung der Hyaluronidasehemmung noch nicht vollständig ist. Im Vergleich zu den Versuchsergebnissen von Eckelmann³², die ein Maximum der Hyaluronidasehemmung durch Reserpin 60 Minuten p.i. fand, ist die Blockierung des hyaluronidasehemmenden Effektes anderer, über das Nebennierenmark wirkender hyaluronidasehemmender Substanzen also erst zu einem Zeitpunkt vollständig, an dem die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch das Reserpin selbst bereits abgeklungen ist. Auch die von Mathies und Mitarbeitern^{2,17,39} nachgewiesene hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins, die sowohl bei intakten als auch bei adrenaletomierten Tieren sichtbar ist, wird durch Reserpin aufgehoben, falls dieses in einem genügenden Zeitabstand vor Adrenalin appliziert wird. Auch Reserpin selbst führt nur noch zu einer geringen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität, falls vorher bereits einmal Reserpin injiziert wurde.

Im Anschluß an die Befunde von Eckelmann³² zeigen diese Versuchsergebnisse, daß Reserpin zu einem Absinken des Blutkatecholaminspiegels und zu einer Blockierung der Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark führt. Daneben blockiert Reserpin auch die Wirkung experimentell zugeführten Adrenalins. Es kann nicht entschieden werden, ob die von anderen Autoren (Kroneberg u. Schumann¹⁹, Zbender u. Studer²⁰, Schmidt²¹, Holtz²², Callingham u. Mann²³, Maxwell, Plummer, Osborne u. Rose²⁴ sowie Kroneberg²⁵) gefundene Verarmung des Nebennierenmarkes an Katecholaminen als Ausschüttung in die Blutbahn zu deuten ist. Jedenfalls ist anzunehmen, daß etwa ausgeschüttete Katecholamine

durch Reserpin unwirksam werden, da auch injiziertes Adrenalin nach Reserpin seine hyaluronidasehemmende Wirkung verliert. Da durch die Versuche der vorgelegten Arbeit ein Absinken des Blutkatecholaminspiegels nach Reserpin wahrscheinlich ist, und da nach H o l z - b a u e r u. V o g t ⁴⁰, B e r t l e r, C a r l s s o n u. R o s e n g r e n ⁴¹, T a k e m o t o, S h o r e, T o m i c h, K u n t z m a n u. B r o d i e ⁴², B r o d i e, O l i m, K u n t z m a n u. S h o r e ⁴³ sowie P l e t c h e r ⁴⁴ nicht nur der Katecholamingehalt der Nebenniere, sondern auch der anderer Gewebe abnimmt, ist eher zu diskutieren, ob Reserpin eine allgemeine Katecholaminblockierung bewirkt. Über den Wirkungsmechanismus, der allgemein als zentral angesehen wird, ist hierbei noch nichts ausgesagt. Nach Untersuchungen von B i e c h e l e ⁴⁵ führt Phenylbutazon im Gegensatz zu den Salicylaten zu einer Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark, vorwiegend auf Kosten einer Neubildung von Katecholaminen. Die Tatsache, daß nach Reserpin auch die Hyaluronidasehemmung des Phenylbutazons blockiert wird, zeigt, daß auch eine Neubildung von Katecholaminen mit anschließender Ausschüttung in die Blutbahn nach Reserpin nicht auftritt bzw. nicht wirksam werden kann.

Zusammenfassung

Durch Bestimmung der Hyaluronidasehemmung, deren Abhängigkeit von einem Abfall des Katecholaminblutspiegels bekannt ist, wurde ein Beitrag zur Wirkungsweise des Reserpins geleistet. Reserpin ist in der Lage, die hyaluronidasehemmende Wirkung des Natrium-Salicylates und des Phenylbutazons zu blockieren. Natrium-Salicylat und Phenylbutazon führen sonst zu einer Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch den Abfall eines durch vorherige Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark erfolgten, vorübergehenden Anstieges des Blutkatecholaminspiegels. Reserpin selbst scheint den normalen Blutkatecholaminspiegel zu senken und verhindert eine Katecholaminwirkung anderer, normalerweise entsprechend wirksamer Substanzen. Auch Adrenalin selbst führt nach Reserpin nicht mehr zu seiner sonst bekannten Hemmung der Hyaluronidaseaktivität.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 64, 617 (1958)
- 2) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 3) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 4) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M.: Ärztl. Forsch. XIV, 160 (1960)
- 5) Mathies, H.: Ztschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 6) Mathies, H.: Int. Ges. Moorforsch. S. 99 (1958)
- 7) Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 8) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 9) Mathies, H.: Med. Mschr. 12, 791 (1957)
- 10) Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 17, 375 (1958)
- 11) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Ztschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 582 (1958)
- 12) Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 13) Mathies, H. u. Schlierf, G.: im Manuskript
- 14) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 15) Mathies, H.: Arch. int. Pharmacodyn. et. Ther. CXXIII, 334 (1960)
- 16) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 17) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D.: Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 18) Schwalbach, K.: Diss. München 1959
- 19) Kroneberg, G. u. Schümann, H.J.: Arzneimittelforsch. 7, 279 (1957)
- 20) Zbender, G. u. Studer, A.: Experientia XIV, 201 (1958)
- 21) Schmidt, K.: Wien. klin. Wschr. 69, 27 (1957)
- 22) Holtz, P.: Dtsch. med. Wschr. 83, 681 (1957)
- 23) Callingham, B.H. u. Mann, M.: Nature 182, 1020 (1957)
- 24) Maxwell, A., Plummer, A.J., Osborne, M.W. u. Rose, S.: J. Pharm. Exp. Therap. 116, 1101 (1956)
- 25) Kroneberg, G.: Pharmaz. Zeitg. 102, 1193 (1957)
- 26) Bein, H.J., Gross, F., Tripod, J. u. Meier, R.: Schweiz. med. Wschr. 83, 1007 (1953)
- 27) Muscholl, E. u. Vogt, M.: J. Physiol. (London) 136, 7P (1957a)
138, 14P (1957b)
- 28) Everett, G.M., Toman, J.E.P. u. Smith, A.H.: Fed. Proc. 16, 295 (1957)
- 29) De Jongh, D.K. u. van Proosdy-Hartzema, E.G.: Ad. physiol. pharm. neerl. 4 175 (1958)
- 30) Maxwell, R.A., Rose, S.D., Plummer, A.J. u. Sigg, E.B.: J. pharm. exp. Ther. 119, 69 (1957)

- 31) Burger, M.: *Helv. physiol. Acta* 14 C 13 (1956)
Arch. exp. Pleth. Pharm. 230, 489 (1957)
- 32) Eckelmann, R.: *Diss. München in Vorbereitung*
- 33) Madinaveitia, J.: *Biochemic J.*, 32, 1806 (1938)
- 34) Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 35) Bachmann, R.: *Handb. mikr. Anat. d. Menschen* VI/5 (1954), 222 ff.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
- 36) Canalis, P.: *Int. Mschr. Anat.* 4, 1887, 312
- 37) Schmidt, D.: *Diss. München in Vorbereitung*
- 38) Hartmann, M.: *Diss. München* 1959
- 39) Mathies, H.: *Ärztli. Forsch.* XII, 87 (1958)
- 40) Holzbauer, M. u. Vogt, M.: *J. Neurochem.* 1, 8 (1956)
- 41) Bertler, A., Carlsson, A. u. Rosengren, E.: *Naturwissenschaften*
43, 521 (1956)
- 42) Takemoto, Y., Shore, P.A., Tomich, E.G., Kuntzman, R.G. u. Brodie, B.B.:
J. pharm. exp. Ther. 119, 188 (1957)
- 43) Brodie, B.B., Olim, J.S., Kuntzman, R.G. u. Shore, P.A.: *Science*
125, 1293 (1957)
- 44) Pletscher, A.: *Schweiz. med. Wschr.* 87, 1532 (1957)
- 45) Biechele, I.: *Diss. München* 1959

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des
Themas und die Übernahme des Referates. Herrn Dr. H. Mathies
danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche
und der Abfassung der Arbeit. Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich bin
ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen dankbar.

Am 9.11.1934 bin ich, Elsbeth Meckel, als 2. Kind des Bauingenieurs Hermann Meckel und dessen Ehefrau Cäcilia geb. Sahner in Überherrn-Saar geboren

Nach 5 jähriger Volksschulzeit von 1941 bis 1946 besuchte ich das Mädchenrealgymnasium in Saarlouis und legte dort im Mai 1955 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1955/56 begann ich das Medizinstudium in München und bestand dort im Winter-Halbjahr 1957/58 die ärztliche Vorprüfung. Ich blieb auch während der klinischen Semester in München und bestand die ärztliche Prüfung im Oktober 1961. Am 7. November 1961 promovierte ich in München.

